



## Triple Negatif Meme Kanserinin Moleküler Temeli Molecular Basis of the Triple Negative Breast Cancer

Ayşe Feyda Nursal

Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Giresun, Turkey

### ABSTRACT

Breast cancer is the most common type of cancer in women and more than 1 million breast cancer cases are diagnosed each year all over the world. Breast cancer is a complex and heterogeneous disease in terms of its molecular structure, mutation type, metastase properties, clinical course and therapeutic response. Breast cancer is divided into subtypes based on expression properties of molecular markers as estrogen receptor, progesteron receptor, human epidermal growth factor receptor 2. Triple-negative breast cancer is characterized by the lack of tumors that estrogen receptor, progesteron receptor, human epidermal growth factor receptor 2 gene expression. These type of tumors lead to aggressive clinical course due to unresponsiveness to systemic endocrine therapy and poor prognosis. Triple negative breast cancer constitutes 10-20% of all breast cancers. It affects generally young and African-American women. Triple negative breast cancer have several subtypes based on the gene expression properties. The majority of them are basal-like breast cancers. In this review, current literature is revised and summarized with respect to the molecular basis of triple negative breast cancer.

**Key words:** Triple negative breast cancer, Estrogen, Progesteron, Basal-like breast cancer,

### ÖZET

Meme kanseri kadınlarda en çok görülen kanser türüdür ve her yıl tüm dünyada 1 milyondan fazla meme kanseri tanısı konmaktadır. Moleküler yapı, mutasyon tipi, metastaz özelliği, klinik gidiş ve tedaviye cevap açısından karışık ve heterojen bir hastalıktır. Meme kanseri estrogen reseptör, progesteron reseptör, human epidermal growth factor receptor 2 proteinlerine ait moleküler belirteçlerinin ekspresyon özelliğine göre alt tiplere ayrılmaktadır. Triple negatif meme kanseri tümörün estrogen reseptör, progesteron reseptör, human epidermal growth factor receptor 2



ekspresyonunun olmayışı ile karakterizedir. Bu tip tümörler sistemik endokrin tedaviye yanıt vermeyişi ve kötü prognoz nedeniyle agresif klinik seyir gösterir. Tripl negatif meme kanseri tüm meme kanserlerinin %15-20'ni oluşturur, çoğunlukla genç yaştakileri ve Afrika-Amerikan kadınları etkiler. Tripl negatif meme kanseri ekspresyon özelliğine göre alt tiplere ayrılır ve çoğunluğunu bazal-like meme kanserleri oluşturur. Bu derlemede, tripl negatif meme kanseri'nin moleküler temeli hakkındaki son literatür gözden geçirilecektir.

**Anahtar kelimeler:** Tripl negatif meme kanseri, Östrojen, Progesteron, Bazal-like meme kanseri

## Giriş

Kanser giderek artış gösteren global bir sağlık sorunudur. Meme kanseri de tüm tüm dünya ülkelerinde kadınlarda en sık görülen kanser türüdür ve her yıl 1 milyon yeni vakaya tanı konulmaktadır<sup>1</sup>. Meme kanseri histolojik, sellüler görünüm, mutasyon tipi, metastatik özellik, klinik gidiş ve tedaviye cevap açısından kompleks ve heterojen hastalık grubudur. Meme kanserinin prognostik ve tedavi seçeneklerini belirlemek amacıyla yapılmış olan sınıflandırmalarına baktığımızda önceleri tümör boyutuna göre sınıflama yer almıştır. Daha sonra, histopatolojik sınıflamaya geçilmiş ve tümör histolojik görünümüne göre tiplendirilmiştir<sup>2</sup>. Günümüzde en sık kullanılan sınıflama histo-morfolojik sınıflama (histopatolojik tip, grade TNM sistemi) olmaktadır<sup>2</sup>.

**Tablo 1. Meme Kanserini Moleküler Alt-Tiplerinin Sınıflandırılması**

Luminal A	ER ve/veya PR(+) ve HER-2 (-) Ki67 < %14
Luminal B	ER ve/veya PR(+) ve HER-2 (-) Ki-67 ≥ % 14
Bazal –like	ER/PR/HER-2 (-)
HER-2	ER/PR(-) ve HER-2(+)
Normal meme benzeri	Non-epitelial hücre gen ekspresyonu (+)

Östrojen reseptörü:ER; Progesteron reseptör PR; Human epidermal growth factor receptor 2 HER-2

Ancak bu belirteçler heterojeniteyi açıklamaya yetersiz kalmaktadır. Yeni tanı konulan meme tümörlerinde östrojen reseptör (ER), progesteron reseptör (PR) ve human epidermal growth factor receptor 2(HER-2) gen ekspresyon özelliği rutinde kullanılan önemli belirteçlerdir. Son yıllarda ileri moleküler teknolojik yöntemlerin uygulanması ile meme tümörlerinin sınıflandırılması gen ekspresyon profiline göre yapılmaktadır. Meme kanserin moleküler alt-tipleri Tablo 1'de gösterilmiştir<sup>3</sup>. Bu derlemede tripl negatif meme kanserindeki güncel moleküler belirteç ve tedavi protokolleri gözden geçirilecektir.

## Tripl Negatif Meme Kanserinin Özellikleri

Triple negatif meme kanseri (TNMK) meme tümörleri içinde ER / PR / HER-2 gen ekspresyonu olmayan minör bir grubu tanımlar ve yeni tanı konmuş hastaların %15-20'sini oluşturur<sup>4,7</sup>. TNMK tümörler biyolojik olarak daha agresif davranış gösterir. Genellikle, tümör boyutunda artış, yüksek grade, tanı esnasında lenf nodu tutulumu, kötü prognoz göstermesi nedeniyle klinisyenlerin ve araştırmacıların ilgi odağı olmuştur<sup>6,7</sup>. Bunun en önemli nedeni, tedaviye uygun hedefin olmaması nedeniyle anti-reseptör tedavinin etkili olmamasıdır.

Premenopozal dönemde (<40 yaş) ortaya çıkar ve etnik özellik gösterir. Afrikalı, Afrika-Amerikan ve Latin kökenli kadınlarda daha fazladır<sup>8</sup>. Beyaz ırk kadınları ile kıyaslandığında Afrika-Amerikan kökenli kadınlarda TNMK gelişimi iki kat fazladır<sup>9</sup>. Etnik özelliğinin germ-line genetik faktörler, çevresel faktörler ve/veya her ikisinin etkisi ile olup olmadığı tam olarak belli değildir<sup>3</sup>. TNMK'deki etnik ve menapozal özellikler diğer ER(+) / HER-2(+) veya ER(+) / HER-2(-) vakalarda gözlenmez. Artmış beden kitle indexi (BMI) ve artmış parite ile ilişkilidir<sup>10</sup>. Metastaz diğer meme kanseri tiplerine göre daha agresif seyir gösterir. Visseral yayılımda beyin, akciğer, karaciğer, santral sinir sistemi yayılımı yaygındır ancak kemik metastazı daha azdır<sup>8,11</sup>.

## Alt Tipleri

TNMK olgularının çoğunda c-MYC amplifikasyonu, EGFR, RB1, PTEN ve PARK2 genlerinde kopya sayısı değişiklikleri görülür<sup>9,12</sup>. TNMK gen ekspresyon profiline göre Bazal-like ve Claudin-low olmak üzere birden fazla moleküler alt tip gösterir<sup>13</sup>.

## Bazal-like

TNMK ve bazal-like meme kanseri (BLMK) arasındaki bağlantının açıklanması önemlidir. Bazı otoriteler BLMK ile TNMK'ini sinonim olarak kullanılmış olsa da bu iki terim sinonim değildir. Mikrodizin analizlerine göre iki grup arasında %30'dan daha fazla diskordans vardır<sup>14</sup>. Tripl negatif terimi ER/PR ve HER-2'nin immunhistokimyasal ölçümüne dayalı iken bazal-like fenotipi cDNA microarray kullanılarak tanımlanır<sup>1,11</sup>. BLMK tüm meme kanserlerinin %16-18'ni, TNMK'nin %75'ni oluşturur<sup>15</sup>. BLMK olgularında ileri grade, artmış mitotik indeks görülür<sup>1,9</sup>. BLMK'nın saptanmasında altın standart gen ekspresyon profilinin saptanmasıdır. BLMK bazal epitelial hücre gen ekspresyon paterni ile ilişkili sitokeratin CK5, CK6, CK14, CK17

ve epidermal growth factor receptor (EGFR) ve az miktarda ER/HER2 eksprese eder<sup>16</sup>. Diğer subtipler ile kıyaslandığında BLMK'inde düşük retinablastoma (Rb), cyclin D1 ve yüksek cyclin 16, p16 mRNA bağlantısının Rb'nin inaktivasyonu ile ilgili olduğunu öne sürmüştür<sup>15</sup>.

### **Claudin-low**

Bu tip hakkında sınırlı bilgi mevcuttur. Tümörlerin %5'ni oluşturur<sup>13</sup>. Claudin proteini hücreler arası sıkı bağlantı bölgesinde görev yapan geniş bir gen ailesinin üyesidir ve sellüler adezyon, polarite ve glanduler farklılaşmayı düzenler<sup>17</sup>. Claudin-low TNMK'de claudin 3/4/7 ve E-cadherin protein ekspresyonu yoktur<sup>10</sup>. Klinik olarak Claudin-low meme tümörleri immunohistokimyasal olarak ER, PR ve HER-2 negatiftir. Yüksek oranda metaplastik ve medüller diferensiyasyon gösterir. Sitotoksik kemoterapiye orta ölçüde cevap verir (bazal-like ve luminal meme tümörleri arasında). Claudin-low tümörler kök hücre özellikleri, hücre adezyon proteinlerinin düşük ekspresyonu, oldukça fazla epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) markırı ile karakterizedir<sup>18</sup>. Bu tip tümörlerde androgen reseptör pozitifdir ve germ-line phosphatase and tensin homolog (PTEN) gen mutasyonu görülebilir<sup>15</sup>.

### **Diğer alt-tipler**

Farklı araştırmacı grupları 20 bağımsız veri merkezinden 500' den fazla meme kanseri örneklerine ait gen ekspresyonu analizlerine göre TNMK'ni 2 basal-like (BL1 and BL2), 1 immunomodulatory (IM), 1 mesenchymal (M), 1 mesenchymal stem-like (MSL) ve 1 luminal androgen receptor (LAR) subtip olmak üzere daha ileri 6 alt-tipe ayırmışlardır<sup>8,18</sup>.

### **BRCA Geni**

BRCA1 (17q21) geni çift iplikli DNA kırıklarının tamirinde rol oynayan ve genomik stabilitenin korunmasında yer alan önemli bir tümör baskılayıcı gendir. BRCA1 mutasyonu taşıyan kadınların hayatı boyunca meme kanseri geliştirme riski yaklaşık %80 olmaktadır<sup>4</sup>. Moleküler yapının aydınlatılmasına yönelik çalışmalar TNMK / BLMK'ların germline BRCA1 mutasyon taşıyıcılarının gen ekspresyonuna benzer özellik taşıdığını göstermiştir<sup>6</sup>.

Kalıtımsal BRCA1 mutasyonu olan kadınlardaki meme kanserlerinin %70'inde ER, PR ve HER2 belirteçleri yoktur ve tümör morfolojik özellikleri, rekürrens paterni ve ölüm oranları TNMK'ne benzerlik göstermiştir<sup>5</sup>. BRCA1 ilişkili meme kanserlerinin çoğunluğunda bazal-like sitokeratinler (CK5, CK14, CK17), HER1 / EGFR ekspresyonuna ek olarak triple negatif fenotip

gösterir. Kalıtsal BRCA1 mutasyonu olan kadınlardaki meme kanserlerinin %70'inde ER, PR ve HER2 belirteçleri yoktur ve tümör morfolojik özellikleri, rekürrens paterni ve ölüm oranları TNMK'ne benzerlik göstermiştir<sup>5</sup>. Bunun dışında, TNMK'lerin BRCA1 mutasyon taşıyıcılarında oluştuğu belirtilmiştir<sup>19</sup>.

## P53 Geni

Tumor protein p53 (P53) hücre döngü kontrolünde rol oynayan tümör baskılayıcı genidir. Son zamanlarda üç farklı çalışmada dizi analizi sonucunda TNMK'de somatik akiz mutasyon en çok (%53.8-%85.7) P53 geninde bulunmuştur<sup>9</sup>. BLMK'lerinin %8'inden fazlasında da P53 geninin mutant bulunduğunu göstermiştir. Bu TNMK / BLMK olgularına artmış genomik instabilite, spesifik sitogenetik değişiklikler ve fazla oranda heterozigote kaybı (LOH) şeklinde yansır<sup>4</sup>.

## ETV4

ETS translocation variant 4 (ETV4) geni ETS transkripsiyon faktörünün PEA3 alt ailesinin bir üyesidir. ETV4 proteini genellikle normal dokuda düşük miktarda eksprese edilir ancak mRNA ve proteini meme, kolorektal, ösofagus, over kanseri dahil çeşitli kanserlerde oldukça fazla miktarda bulunur. Yapılan bir çalışmada luminal tip meme kanseri ile kıyaslandığında ETV4 mRNA'sının TNMK dokusunda beş kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. ETV4 protein overekspresyonunun TNMK'de uzak metastaza ve kötü prognoza neden olduğu belirtilmiştir<sup>20</sup>.

## mRNA

MicroRNAs'lar (miRs) yaklaşık 20-23 nükleotitten oluşan protein kodlamayan, küçük tek iplikli RNA molekülüdür. Hücre çoğalması, hücre farklılaşması, apoptoz gibi hücrel olaylarda rol alır ve hedef mRNA'nın 3' untranslated-region (UTR)'ne bağlanarak post-transkripsiyonel gen ekspresyonunu inhibe eder. Bu gen sessizleşmesi genin mRNA'sının post-translasyonel inhibisyonu ya da hedef mRNA ve miR dizilerinin arasına bağlanıp komplementasyon ile onların ayrılmasına sebep olur<sup>21</sup>. Meme kanserinin biyolojisinde önemli role sahip ve farklı şekilde eksprese olan birçok miRNA'lar vardır. Son çalışmalarda, miRNA'ların tümördeki heterojen ekspresyonu değerlendirildiğinde hipoksi ve angiogeneze ilgili olduğunu ve bunun da farklı mikro damar dağılımı, tümörün içinde hipoksik durum ile ilgili olduğu gösterilmiştir. TNMK ile ilişkili 50 microRNA'lık set tesbit edilmiş, bunların içinde miR-20a, miR-20b'nin

sırasıyla Vascular endothelial growth factor A (VEGF-A) ve Hypoxia-inducible factor 1-alpha'a (HIF-1a)'ı hedef olarak görmeleri yönüyle dikkat çekici bulunmuştur<sup>22</sup>. Birçok miRNA'nın TNMK dahil meme kanserlerinde prognostik role sahip olduğu saptanmıştır. Bunlardan miR-16, miR-155 veya miR-374 upregulasyon göstermesi iyi prognozla ilişkili iken, miR-125b down regulasyon göstermesi kötü prognozla ilişkili olarak bulunmuştur<sup>22</sup>. miR-210'nın ER(+) gruba göre TNMK'de daha fazla eksprese olduğu ve bağımsız prognostik faktör olduğu belirtilmiştir<sup>23</sup>.

## Emzirme

Emzirme meme kanseri riskini azaltan bir faktördür. Çeşitli çalışmalar az 4-6 ay emziren kadınların, çocuk sahibi olup emzirmeyen kadınlara göre TNMK riskini %25-50 azalttığını göstermiştir<sup>24</sup>.

## Dolaşımdaki Tümör Hücreleri

Kan dolaşımına katılan tümör hücreleri (CTC) primer tümörden veya metastazdan kan dolaşımına katılan hücrelerdir ve sıvı biyopsi olarak tanımlanabilir. Primer tümörden salınma zamanı, heterojenitesi veya fonksiyonel özelliği hakkındaki bilgiler çok sınırlıdır. Buna rağmen bu hücrelerin bir kısmının klonal metastatik lezyonu başlatma yeteneğine sahip metastatik prekürsör hücreler olduğu düşünülmektedir. Fernandez ve ark. çalışmalarında metastatik meme kanserli hastada TP53 mutasyonlarını inceleyerek CTC'lerin moleküler karakterizasyonunu sağlamış ve farklı alt-klonların varlığını göstermişlerdir. Bu yöntemin non-invaziv tümör karakterizasyonuna ve tedavi seçeneğine imkan sağladığını belirtmişlerdir<sup>25</sup>.

## Tedavi

TNMK genel olarak kötü prognoz gösterse de, neo-adjuvant kemoterapi alan non-metastatik TNMK'li hastalar meme kanserinin diğer alt-tiplerine göre daha iyi cevap vermektedir<sup>26</sup>. Poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase (PARP) enzimi DNA tek dal kırıklarının tanınması ve tamirinde görevli enzimlerdir. TNMK BRCA1 mutant kanserlerine benzer ekspresyon özelliği gösterdiği için BRCA mutant kanserlerin tedavisinde kullanılan PARP inhibitörlerinin TNMK'de kullanılmasını gündeme getirmiştir<sup>27</sup>.

## Sonuç

Meme kanseri oluşum safhasında farklı mutasyonlar ve değişken gen ekspresyonlarının meydana gelmesi nedeniyle oldukça heterojen ve kompleks bir hastalıktır. Moleküler alt-tipleri ve özelliklerinin daha ayrıntılı olarak belirlenmesi, tümör davranışının anlaşılmasına katkı sağlayacaktır. Günümüzde meme tümörlerinin spesifik moleküler özelliklerinin bilinmesi bireye özgü tedaviyi mümkün kılmaktadır.

## Kaynaklar

1. Ismail-Khan R, Bui MM. A review of triple-negative breast cancer. *Cancer Control*. 2010;17:173-6.
2. de Ruijter TC, Veeck J, de Hoon JP, van Engeland M, Tjan-Heijnen VC. Characteristics of triple-negative breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2011;137:183-92.
3. Reddy KB. Triple-negative breast cancers: an updated review on treatment options. *Curr Oncol*. 2011;18:73-9.
4. Gluz O, Liedtke C, Gottschalk N, Pusztai L, Nitz U, Harbeck N. Triple-negative breast cancer--current status and future directions. *Ann Oncol*. 2009;20:1913-27.
5. Stevens KN, Vachon CM, Couch FJ. Genetic susceptibility to triple-negative breast cancer. *Cancer Res*. 2013;73:2025-30.
6. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest*. 2011;121:2750-67.
7. Penault-Llorca F, Viale G. Pathological and molecular diagnosis of triple-negative breast cancer: a clinical perspective. *Ann Oncol*. 2012;23:19-22.
8. Peng Y. Potential prognostic tumor biomarkers in triple-negative breast carcinoma. *Beijing Da Xue Xue Bao*. 2012; 18:666-72.
9. Engebraaten O, Volland HK, Børresen-Dale AL. Triple-negative breast cancer and the need for new therapeutic targets. *Am J Pathol*. 2013;183:1064-74.
10. Peddi PF, Ellis MJ, Ma C. Molecular basis of triple negative breast cancer and implications for therapy. *Int J Breast Cancer*. 2012;217185.
11. Criscitiello C, Azim HA Jr, Schouten PC, Linn SC, Sotiriou C. Understanding the biology of triple-negative breast cancer. *Ann Oncol*. 2012;23:13-8.
12. Brady-West DC, McGrowder DA. Triple negative breast cancer: therapeutic and prognostic implications. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2011;12:2139-43.
13. Carey LA. Directed therapy of subtypes of triple-negative breast cancer. *Oncologist*. 2010;15:49-56.

14. Prat A, Adamo B, Cheang MC, Anders CK, Carey LA, Perou CM. Molecular characterization of basal-like and non-basal-like triple-negative breast cancer. *Oncologist*. 2013;18:123-33.
15. Elsayaf Z, Sinn HP. Triple-negative breast cancer: clinical and histological correlations. *Breast Care (Basel)*. 2011;6:273-8.
16. Kuo WH, Chang YY, Lai LC, Tsai MH, Hsiao CK, Chang KJ et al. Molecular characteristics and metastasis predictor genes of triple-negative breast cancer: a clinical study of triple-negative breast carcinomas. *PLoS One*. 2012;7:e45831.
17. Lu S, Singh K, Mangray S, Tavares R, Noble L, Resnick MB et al. Claudin expression in high-grade invasive ductal carcinoma of the breast: correlation with the molecular subtype. *Mod Pathol*. 2013;26:485-95.
18. Anders CK, Zagar TM, Carey LA. The management of early-stage and metastatic triple-negative breast cancer: a review. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2013;27:737-49.
19. Hosford SR, Miller TW. Clinical potential of novel therapeutic targets in breast cancer: CDK4/6, Src, JAK/STAT, PARP, HDAC, and PI3K/AKT/mTOR pathways. *Pharmgenomics Pers Med*. 2014;7:203-15.
20. Yuan ZY, Dai T, Wang SS, Peng RJ, Li XH, Qin T et al. Overexpression of ETV4 protein in triple-negative breast cancer is associated with a higher risk of distant metastasis. *Onco Targets Ther*. 2014;7:1733-42.
21. Eichelser C, Stückrath I, Müller V, Milde-Langosch K, Wikman H, Pantel K et al. Increased serum levels of circulating exosomal microRNA-373 in receptor-negative breast cancer patients. *Oncotarget*. 2014;5:9650-63.
22. D'Ippolito E, Iorio MV. MicroRNAs and triple negative breast cancer. *Int J Mol Sci*. 2013;14:22202-20.
23. Radojicic J, Zaravinos A, Vrekoussis T, Kafousi M, Spandidos DA, Stathopoulos EN. MicroRNA expression analysis in triple-negative (ER, PR and Her2/neu) breast cancer. *Cell Cycle*. 2011;10:507-17.
24. Phipps AI, Li CI. Breastfeeding and triple-negative breast cancer: potential implications for racial/ethnic disparities. *J Natl Cancer Inst*. 2014;15:106(10):pii, dju281.
25. Fernandez SV, Bingham C, Fittipaldi P, Austin L, Palazzo J, Palmer G et al. TP53 mutations detected in circulating tumor cells present in the blood of metastatic triple negative breast cancer patients. *Breast Cancer Res*. 2014;16:445.
26. Davis SL, Eckhardt SG, Tentler JJ, Diamond JR. Triple-negative breast cancer: bridging the gap from cancer genomics to predictive biomarkers. *Ther Adv Med Oncol*. 2014;6:88-100.
27. Hosford SR, Miller TW. Clinical potential of novel therapeutic targets in breast cancer: CDK4/6, Src, JAK/STAT, PARP, HDAC, and PI3K/AKT/mTOR pathways. *Pharmgenomics Pers Med*. 2014;7:203-15.



**Correspondence Address / Yazışma Adresi**

Ayşe Feyda Nursal  
Giresun Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı  
Giresun, Turkey  
e-mail: feydanursal@hotmail.com